

New co-poly(hydroxyglutamine) containing pendent hydrophobic groups, useful as vector for pharmaceuticals, cosmetics, dietics and plant-protection agents

Publication number: FR2881140 (A1)

Publication date: 2006-07-28

Inventor(s): SOULA REMI; CHAN YOU PING

Applicant(s): FLAMEL TECHNOLOGIES SA [FR]

Classification:


- international: C08G69/10; A61K47/48; C08G69/48; C08G69/00; A61K47/48


- European: A61K8/88; A61Q19/00; C08G69/10; C08G69/48; C08L77/04


Application number: FR20050050231 20050127


Priority number(s): FR20050050231 20050127


Also published as:

 FR2881140 (B1)

 MX2007009029 (A)


 KR20070101337 (A)


 JP2008528543 (T)


 WO2006079614 (A2)


more >>


Cited documents:

 FR2786098 (A1)

 EP0179023 (A2)

 WO8703891 (A1)

 FR2855521 (A1)

 FR2843117 (A1)

Abstract of FR 2881140 (A1)

Co-poly(hydroxyglutamine) (A) comprising many, same or different, pendant hydrophobic groups (HG) is new. An independent claim is also included for: (1) Composition comprising (A) with pendant hydrophobic groups and at least one active agent; (2) Preparation of a composition of (A) comprising reacting poly(L-glutamic acid) (Y) with isobutyl chloroformate, and simultaneously or sequentially, reacting with a compound that introduces HG, and a compound that introduces hydroxyalkylamino. Alternatively, (Y) is reacted first with a HG-containing compound and then with isobutyl chloroformate and hydroxyalkylamine, and HG is grafted on to the hydroxy groups of a poly(alkyl-L-glutamate) alkylamide.

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 881 140

②1 N° d'enregistrement national : 05 50231

⑤1 Int Cl⁸ : C 08 G 69/10 (2006.01), C 08 G 69/48, A 61 K 47/48

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 27.01.05.

③0 Priorité :

⑦1 Demandeur(s) : FLAMEL TECHNOLOGIES Société
anonyme — FR.

⑦2 Inventeur(s) : SOULA REMI et CHAN YOU PING.

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 28.07.06 Bulletin 06/30.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : CABINET PLASSERAUD.

⑤4 COPOLYHYDROXYALKYLGLUTAMINES FONCTIONNALISÉES PAR DES GROUPEMENTS HYDROPHOBES ET
LEURS APPLICATIONS NOTAMMENT THÉRAPEUTIQUES.

⑤7 La présente invention concerne des nouveaux maté-
riaux à base de polyaminoacides modifiés, biodégradables,
utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s)
(PA). L'invention vise aussi de nouvelles compositions phar-
maceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à
base de ces polyaminoacides.

Le but de l'invention est de fournir une nouvelle matière
première polymère, susceptible d'être utilisée pour la vecto-
risation de PA et permettant de satisfaire de manière opti-
male à toutes les spécifications requises en l'espèce:
biocompatibilité, biodégradabilité, aptitude à s'associer faci-
lement avec de nombreux principes actifs ou à les solubili-
ser, et à libérer ces principes actifs in vivo. Ce but est atteint
par la présente invention qui concerne des nouveaux copo-
lyhydroxyalkylglutamines, comprenant des unités glutami-
nes et éventuellement des unités glutamates, et qui sont
porteuses de groupements hydrophobes comportant de 8 à
30 atomes de carbone.

Ces copolyhydroxyalkylglutamines sont amphiphiles et
sont aptes à se transformer aisément et économiquement
en particules de vectorisation de principes actifs, ces parti-
cules étant elles même propres à former des suspensions
colloïdales aqueuses stables.

FR 2 881 140 - A1



COPOLYHYDROXYALKYLGLUTAMINES FONCTIONNALISES PAR DES GROUPEMENTS HYDROPHOBES ET LEURS APPLICATIONS NOTAMMENT THERAPEUTIQUES

5 La présente invention concerne des nouveaux matériaux biodégradables à base de copolyaminoacides, utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s) (PA).

L'invention vise aussi de nouvelles compositions pharmaceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à base de ces polyaminoacides modifiés. Ces compositions peuvent être du type de celles permettant la vectorisation de PA et se présentant, de
10 préférence, sous forme d'émulsions, de micelles, de particules, de gels, d'implants ou de films.

Les PA considérés sont, avantageusement, des composés biologiquement actifs et qui peuvent être administrés à un organisme animal ou humain par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique;
15 intrapéritonéale, intracérébrale, buccale, etc.

Les PA plus particulièrement, mais non limitativement, concernés par l'invention sont des protéines, des glycoprotéines, des peptides, des polysaccharides, des lipopolysaccharides, des oligo ou des polynucléotides, et des molécules organiques. Mais il peut aussi s'agir de produits cosmétiques ou de produits phytosanitaires, tels que des
20 herbicides, des insecticides, des fongicides, etc.

Dans le domaine de la vectorisation des principes actifs notamment médicamenteux, il existe un besoin, dans beaucoup de cas :

- de les protéger contre la dégradation (hydrolyse, précipitation sur site,
25 digestion enzymatique etc..) jusqu'à ce qu'ils atteignent leur site d'action,
- et/ou de contrôler leur vitesse de libération afin de maintenir un niveau thérapeutique sur une durée définie, soit
- et/ou de les véhiculer (en les protégeant) au site d'action.

30 A ces fins, plusieurs types de polymères ont été étudiés et certains sont même disponibles commercialement. On peut citer, par exemple, les polymères du type polylactique, polylactique-glycolique, polyoxyéthylène-oxypropylène, polyaminoacide ou encore polysaccharide. Ces polymères constituent des matières premières permettant de fabriquer, par exemple, des implants massiques, des microparticules, des nanoparticules,
35 des vésicules, des micelles ou des gels. Outre le fait que ces polymères doivent être adaptés à la fabrication de tels systèmes, ils doivent également être biocompatibles, non-toxiques, non-immunogènes, économiques et ils doivent pouvoir être facilement

éliminés du corps et/ou être biodégradables. Sur ce dernier aspect, il est de surcroît essentiel que la biodégradation dans l'organisme génère des produits non-toxiques.

Un autre aspect aussi important dans le développement d'un polymère associatif est sa solubilité dans l'eau. La possibilité de solubiliser une quantité élevée de polymère permet d'avoir un rapport polymère/principe actif adapté au profil de libération souhaité.

A titre d'illustration de l'art antérieur concernant des polymères employés comme matières premières pour la réalisation de systèmes de vectorisation de PA, divers brevets ou demandes de brevet ou articles scientifiques sont évoqués ci-après.

Le brevet US-B-4,652,441 décrit des microcapsules de polylactide encapsulant l'hormone LH-RH. Ces microcapsules sont produites en préparant une émulsion eau-dans-huile-dans-eau et comprennent une couche interne aqueuse contenant l'hormone, une substance (gélatine) fixant cette dernière, une couche huileuse de polylactide, ainsi qu'une couche externe aqueuse (alcool polyvinylique). La libération du PA peut se faire sur une période de plus de deux semaines après injection sous-cutanée.

Le brevet US-B-6,153,193 décrit des compositions à base de micelles de poly(oxyéthylène)-poly(oxypropylène) amphiphiles, pour la vectorisation d'anti-cancéreux tel que l'adriamycine.

Akiyoshi et al. (J. Controlled Release 1998, 54, 313-320) décrivent des pullulans qui sont rendus hydrophobes par greffage de cholestérol et qui forment des nanoparticules dans l'eau. Ces nanoparticules aptes à se complexer de manière réversible avec l'insuline, forment des suspensions colloïdales stables.

Le brevet US-B-4,351,337 décrit des copolyaminoacides amphiphiles, à base de leucine et de glutamate, utilisables sous forme d'implants ou de microparticules pour la libération contrôlée de principes actifs. La libération de ces derniers peut se faire sur une durée très longue dépendant de la vitesse de dégradation du polymère.

Le brevet US-B-4,888,398 décrit des polymères à base de polyglutamate ou polyaspartate, et éventuellement polyleucine, avec des groupements pendants de type alkyloxycarbonylméthyle, placés de façon aléatoire sur la chaîne polyaminoacide. Ces polyaminoacides, greffés par des groupements latéraux e.g. méthoxycarbonylméthyle, sont utilisables sous forme d'implants biodégradables contenant un PA à libération prolongée.

Le brevet US-B-5,904,936 décrit des nanoparticules obtenues à partir d'un polymère bloc polyleucine-polyglutamate, aptes à former des suspensions colloïdales stables et capables de s'associer spontanément avec des protéines biologiquement actives sans les dénaturer. Ces dernières peuvent ensuite être libérées in vivo de manière contrôlée, sur une longue période.

Le brevet US-B-5,449,513 décrit des copolymères bloc amphiphiles comprenant un bloc polyoxyéthylène et un bloc polyaminoacide, par exemple poly(béta-benzyl-L-aspartate). Ces polymères polyoxyéthylène-polybenzylaspartate forment des micelles qui sont aptes à encapsuler des molécules actives hydrophobes telles que l'adryamicine ou l'indométhacine.

La demande de brevet WO-A-99/61512 décrit des polylysines et des polyornithines fonctionnalisées par un groupe hydrophobe (acide palmitique relié à la polylysine ou ornithine) et un groupe hydrophile (polyoxyéthylène). Ces polymères, par exemple la polylysine greffée avec des chaînes polyoxyéthylène et palmitoyl forment, en présence de cholestérol, des vésicules capables d'encapsuler la doxorubicine ou l'ADN. Ces polymères à base de polylysines sont cationiques en milieu physiologique.

Le brevet US-B-6,630,171 de la demanderesse, décrit des polymères blocs ou aléatoires poly(glutamate de sodium)-poly(glutamate de méthyle, d'éthyle, d'hexadécyle ou de dodécyle), aptes à former des suspensions colloïdales stables et capables de s'associer spontanément avec des protéines biologiquement actives sans les dénaturer. Ces dernières peuvent ensuite être libérées in vivo de manière contrôlée, sur une longue période. Ces copolyaminoacides linéaires amphiphiles sont modifiés par la présence d'une chaîne latérale alkyle hydrophobe. Ces groupements alkyles sont greffés de façon covalente sur le polymère via une fonction ester. Ces polymères sont anioniques en milieu physiologique.

Dans le même domaine, la demanderesse a décrit dans plusieurs demandes de brevets, des polymères à base de polyglutamate (anioniques) avec des concepts apparentés.

La demande WO-A-03/104303 décrit des polyaminoacides anioniques fonctionnalisés par de l'alpha-tocophérol

La demande WO-A-2004/013206 décrit des polyaminoacides anioniques comportant des groupements hydrophobes et caractérisés en ce que ces groupements sont reliés au polymère par l'intermédiaire d'une rotule contenant deux fonctions amides, et plus précisément via un espaceur de type lysine ou ornithine.

La demande WO-A-2004/060968 décrit des polyaminoacides fonctionnalisés par au moins un groupement oligoaminoacide à base de leucine et/ou isoleucine et/ou valine et/ou phénylalanine.

5 La demande de brevet WO-A-87/03891 décrit des polymères amphiphiles, linéaires, branchés ou en étoile, avec au moins deux groupements hydrophobes liés seulement à leurs extrémités. Cette demande de brevet concerne essentiellement des polymères hydrophiles neutres à base de polyéthylène glycol, comme en témoigne tous les exemples de ce brevet. Or, ce type de polymère n'est pas biodégradable, ce qui constitue
10 un inconvénient majeur.

Les demandes de brevet WO-A-02/098951 et WO-A-02/098952 décrivent des polyalkyleglutamines ayant un ou deux groupements hydrophobes à une extrémité du polymère. Ces polymères sont aptes à former des liposomes et à encapsuler des petites
15 molécules (principe actif) hydrosolubles.

La demande de brevet WO-A-03/002096 décrit des polyhydroxyéthylaspartamide ayant à la fois une chaîne de polyéthylène-glycol à une extrémité du polymère et des groupements hydrophobes pendants. Ces polymères sont aptes à former des nanoparticules et à encapsuler des principes actifs.
20

La demande de brevet WO-A-02/28521 décrit une suspension de particules biocompatibles de vectorisation (PV) de principes actifs (PA). Ces PV sont à base d'un copolymère dibloc *polyaminoacide neutre hydrophile* (polyAANI) / *polyaminoacide*
25 *neutre hydrophobe* (polyAANO), par exemple POLY[(LEU)-BLOC-(GLN-N-HYDROXYETHYL)]_X. Ces particules de polyAANI/polyAANO sont aptes à associer en suspension colloïdale à l'état non dissous, au moins un PA et à libérer celui-ci, notamment in vivo, de manière prolongée et/ou retardée. L'invention vise, également, un solide pulvérulent à partir duquel sont issues les PV ainsi que la préparation de ce solide et de
30 cette suspension de PV à base de polyAANI/polyAANO. Ces nouvelles PV forment spontanément et sans l'aide de tensioactifs ou de solvants organiques, des suspensions aqueuses stables. L'invention concerne également les PV sous forme sèche, leur procédé de préparation, ainsi que des compositions pharmaceutiques (forme sèche ou suspension) comprenant ces PV associés à un principe actif.

35

Ainsi, même si de très nombreuses solutions techniques sont développées et proposées dans l'art antérieur pour la vectorisation des principes actifs médicamenteux, la réponse à l'ensemble des exigences est difficile à obtenir et demeure perfectible. Plus

spécifiquement, l'invention concerne des polyaminoacides biodégradables connus, transformables en nano- ou micro-particules colloïdales de vectorisation aptes à s'associer réversiblement à des principes actifs.

5 Dans ce contexte, l'un des objectifs essentiels de la présente invention est de fournir de nouveaux copolyaminoacides amphiphiles, linéaires ou branchés et essentiellement neutres, solubles dans une large gamme de pH. Ces polymères représentent un perfectionnement par rapport à ceux décrits dans les brevets ou demandes de brevets cités plus haut, en termes de vectorisation d'un principe actif tel qu'une protéine thérapeutique.

10

Un autre objectif essentiel de la présente invention est que ces polymères soient aptes à être utilisés pour la vectorisation de PA et permettent de satisfaire de manière optimale à toutes les spécifications du cahier des charges, à savoir notamment :

- o capacité :
 - 15 ▪ à former aisément et économiquement des suspensions colloïdales aqueuses stables,
 - à s'associer facilement avec de nombreux principes actifs,
 - et à libérer ces principes actifs in vivo,
- o biocompatibilité,
- 20 o biodégradabilité,
- o stabilité à l'hydrolyse.

Cet objectif, parmi d'autres, est atteint par la présente invention qui concerne tout d'abord un copolhydroxyalkylglutamine comprenant une multiplicité de groupements hydrophobes (GH) pendants et identiques ou différents entre eux.

25 Au sens de l'invention, le terme "multiplicité" signifie que le copolhydroxyalkylglutamine comprend, en moyenne, au moins deux GH pendants par molécule. Il est possible conformément à l'invention que le copolhydroxyalkylglutamine présente, en plus des GH pendants, des GH fixés sur au moins l'une des extrémités des chaînes de copolymère.

30

Suivant une modalité préférée de l'invention, ce copolhydroxyalkylglutamine comporte en moyenne au moins 3 groupements hydrophobes (GH) par chaîne copolymère.

Le copolyhydroxyalkylglutamine est également porteur de groupements hydroxyalkylamine. Ces groupements hydroxyalkylamine sont de préférence liés au copolymère par l'intermédiaire d'une liaison amide.

35

Il est du mérite de la demanderesse d'avoir mis au point une nouvelle famille de copolymères à base de polyhydroxyalkylglutamines "essentiellement neutres" et fonctionnalisés par une multiplicité de groupements hydrophobes et aptes à former des systèmes colloïdaux stables. La capacité de modifier le nombre de charges anioniques sur la surface d'un colloïde permet de modifier notamment leur interaction avec les protéines et/ou des cellules du vivant, permettant ainsi de faire varier leur biodisposition (voir par exemple l'article de Furumoto et al. J. Controlled Release 2004, 97, 133-141).

Ces nouveaux polymères se sont avérés être particulièrement bien adaptés pour la vectorisation des protéines. De plus, ils sont facilement dégradés, en présence d'enzymes, en catabolites/métabolites non toxiques (acides aminés).

Au sens de l'invention et dans tout le présent exposé, les termes "association" ou "associer" employés pour qualifier les relations entre un ou plusieurs principes actifs et les copolyhydroxyalkylglutamines, signifient en particulier que le ou les principes actifs sont liés au(x) copolyhydroxyalkylglutamine(s) notamment par une interaction hydrophobe, et/ou sont encapsulés par le ou les copolyhydroxyalkylglutamine.

Les groupements hydroxyalkylamine utilisables pour fonctionnaliser les unités glutamates du copolyhydroxyalkylglutamine sont identiques ou différents entre eux et sont par exemple choisis parmi les groupements suivants: le 2-hydroxyéthylamine, le 3-hydroxypropylamine, le 2,3-dihydroxypropylamine, le tris(hydroxyméthyl)aminométhane et le 6-hydroxyhexylamine.

Avantageusement, au moins l'un des groupements hydrophobes GH est inclus dans un greffon hydrophobe comprenant au moins une rotule (ou motif) d'espacement ("spacer") permettant de relier le groupement hydrophobe GH à une chaîne de copolyglutamates (par exemple une chaîne principale – squelette-copolyglutamates). Cette rotule peut comprendre, e.g. au moins une liaison covalente directe et/ou au moins une liaison amide et/ou au moins une liaison ester. Par exemple, la rotule peut être du type de celles appartenant au groupe comportant notamment: les unités "acide aminé" différentes de l'unité monomérique constitutive du copolyglutamates, les dérivés des aminoalcools, les dérivés des polyamines (par exemple les diamines), les dérivés des polyols (par exemple les diols) et les dérivés des hydroxyacides.

35

Le greffage des GH sur la chaîne copolyglutamates ou polyalkylglutamine peut passer par la mise en œuvre de précurseurs de GH, aptes à se lier à la chaîne copolyglutamates ou copolyhydroxyalkylglutamines.

Les précurseurs des GH sont, en pratique et sans que cela ne soit limitatif, choisis dans le groupe comprenant les alcools et les amines, ces composés pouvant être fonctionnalisés facilement par l'homme de l'art. Le greffage des GH est explicité plus en
 5 détail ci-après dans la description du procédé d'obtention des polyaminoacides modifiés selon l'invention.

Suivant une caractéristique préférée, le groupement hydrophobe GH du greffon hydrophobe comporte de 8 à 30 atomes de carbone.

10 → Ces groupements hydrophobes GH sont avantageusement et judicieusement sélectionnés dans le groupe comprenant :

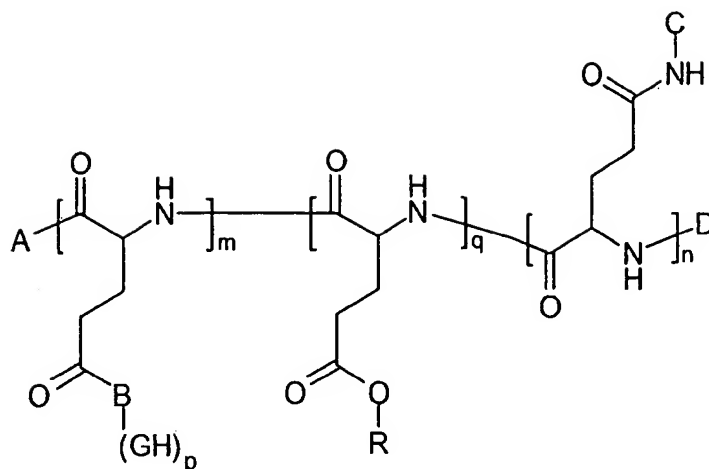
- les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
- les alkylaryles ou arylalkyles en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au
 15 moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
- et les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome.

Les rotules formant avec les GH des greffons hydrophobes, peuvent être di-, tri- ou
 20 tétravalentes (voire pentavalentes et plus). Dans le cas d'une rotule divalente, le greffon hydrophobe comporte un seul groupement GH, tandis qu'une rotule trivalente confère au greffon hydrophobe un caractère bifide, c'est à dire que le greffon présente deux "pattes" GH. A titre d'exemple de rotule trivalente on peut citer, entre autres, des unités "acide aminé", par exemple "acide glutamique" ou des restes polyols, par exemple glycérol.
 25 Ainsi, deux exemples avantageux mais non limitatifs de greffons hydrophobes comprenant des GH bifides sont les dialkyles glycérol et les dialkyles glutamate.

Les groupements hydrophobes GH peuvent être, par exemple, dérivés de groupements choisis dans le groupe comprenant :
 30 l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol

De préférence, le squelette du copolyglutamate selon la présente invention comprend des unités d'alpha-L- glutamate et/ou d'alpha-L- glutamique.
 35

De manière plus préférée encore, les copolyhydroxyalkylglutamines selon l'invention répondent à l'une des formules générales (I) suivantes:



dans laquelle :

- 5 ▪ A représente indépendamment :
- Un groupement NHR^2 dans laquelle R^2 représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10 ou un benzyle,
 - Une unité acide aminé terminale liée par l'azote et dont la fonction(s) acide(s) est éventuellement modifiée par une amine ou un alcool répondant aux définitions NHR^2 et OR^2 respectivement.
- 10 ▪ B est un groupement de liaison divalent, trivalent ou tétravalent, de préférence choisi parmi les radicaux suivants:
 -O-, -NH-, -N-alkyle- (C1 à C5), un résidu d'acide aminé (de préférence naturel), un diol, un triol, une diamine, une triamine, un aminoalcool ou un hydroxyacide comportant de 1 à 6 atomes de carbone,
- 15 ▪ C est un groupement mono, di ou trihydroxy(C1 à C6)alkyl, de préférence l'hydroxyéthyle, l'hydroxy-propyle ou le trishydroxyméthylméthane.
- D représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate;
- 20 ▪ Les groupements hydrophobes GH représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical choisi parmi:
- Les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
- 25 • Les alkylaryles ou arylalkyle en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou

- Les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S);
- R représente un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :
 - les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium ;
 - les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
 - les cations à base d'amine,
 - les cations à base d'oligoamine,
 - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
 - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
 - ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine;
- m, n et q sont des entiers positifs;
- $(m)/(m+q+n)$ est défini comme le taux de greffage molaire des groupements hydrophobes GH et varie de 0,5 à 90 % molaire sous condition que chaque chaîne de copolymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes;
- $(m+q+n)$ varie de 10 à 1000, de préférence entre 30 et 500;
- $(q)/(m+q+n)$ varie de 0 à 60 % molaire ;
- p est un entier variant de 1 à 3.

De préférence, les groupements hydrophobes GH sont disposés de façon aléatoire.

30

Il est par ailleurs préférable que le taux de greffage molaire en motif hydrophobe des copolyhydroxyalkylglutamines selon l'invention, soit compris entre 2 et 100 %, et de préférence entre 5 et 50 % sous condition que chaque chaîne de polymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes.

35

Le rapport $(q)/(m+q+n)$ des copolyhydroxyalkylglutamines selon l'invention signifient qu'ils peuvent contenir de 0 à environ 60 % molaire de fonctions carboxyliques ou carboxylates.

Selon une autre caractéristique remarquable de l'invention, les polymères selon l'invention ont une masse molaire qui se situe entre 2 000 et 200 000 g/mole, et de préférence entre 5 000 et 100 000 g/mole.

5

Suivant une variante le copolyhydroxyalkylglutamine selon l'invention peut être porteur d'au moins un greffon de type polyalkylène (de préférence éthylène)glycol lié à une unité glutamate.

10 Naturellement, l'invention couvre également des mélanges de polyaminoacides modifiés tels que définis ci-dessus.

De manière remarquable, les copolyhydroxyalkylglutamines de l'invention sont susceptibles d'être utilisés de plusieurs façons selon la nature des groupements hydrophobes et le degré de polymérisation du copolyglutamate. Les méthodes de mise en forme d'un polymère pour l'encapsulation d'un principe actif sous les diverses formes visées par l'invention sont connues de l'homme de l'art. Pour plus de détails, on peut se référer, par exemple à ces quelques références particulièrement pertinentes :

20 "*Microspheres, Microcapsules and Liposomes ; vol 1. Preparation and chemical applications*" Ed. R. Arshady, Citus Books 1999. ISBN : 0-9532187-1-6.

"*Sustained-Release Injectable Products*" Ed. J. Senior et M. Radomsky, Interpharm Press 2000. ISBN : 1-57491-101-5.

"*Colloidal Drug Delivery Systems*" Ed. J. Kreuter, Marcel Dekker, Inc. 1994. ISBN : 0-8247-9214-9.

25 "*Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*" Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, Inc. 2000. ISBN : 0-8247-0369-3.

Ces copolyhydroxyalkylglutamines sont en outre extrêmement intéressants du fait que, selon la longueur du copolymère (degré de polymérisation) et la nature des groupements hydrophobes, ils se dispersent dans l'eau à pH 7,4 (par exemple avec un tampon phosphate) pour donner des solutions ou des suspensions colloïdales ou des gels structurés ou non, en fonction de la concentration en copolymères. De plus, les copolyhydroxyalkylglutamines (sous forme de particules ou non), peuvent encapsuler ou s'associer aisément avec des principes actifs tels que des protéines, peptides ou petites molécules. La mise en forme préférée est celle décrite dans le brevet US-B-6,630,171 de la demanderesse et qui consiste à disperser le copolymère dans l'eau et à incubé la solution en présence d'un principe actif (PA). Cette solution colloïdale de particules de

30

35

vectorisation constituées des copolyhydroxyalkylglutamines selon l'invention, peut ensuite être filtrée sous 0,2 μm puis directement injectée à un patient.

Quand le rapport hydrophile/hydrophobe diminue, le copolymère peut alors former des microparticules capables d'associer ou d'encapsuler des PA. Dans ce contexte, la mise en forme des microparticules peut se faire en co-solubilisant le PA et le polymère dans un solvant organique approprié puis le mélange précipité dans l'eau. Les particules sont ensuite récupérées par filtration et peuvent ensuite être utilisées pour une administration par voie orale (sous forme de gélule, sous forme compactée et/ou enrobée ou bien encore sous forme dispersée dans une huile) ou par voie parentérale après redispersion dans l'eau.

Selon une variante, le copolymère peut être solubilisé dans un solvant biocompatible tel que la N-méthylpyrrolidone l'éthanol ou une huile appropriée telle que le Mygliol® puis injecté en intramusculaire ou sous-cutanée ou dans une tumeur. La diffusion du solvant ou de l'huile conduit à la précipitation du copolymère sur le site d'injection et forme ainsi un dépôt. Ces dépôts assurent ensuite une libération contrôlée par diffusion et/ou par érosion et/ou par dégradation hydrolytique ou enzymatique du copolymère.

Indépendamment du fait que la forme microparticulaire du polymère selon l'invention est préférée, les copolymères de l'invention, sous forme neutre ou ionisée, sont de façon plus générale, utilisables seuls ou dans une composition liquide, solide ou gel et dans un milieu aqueux ou organique.

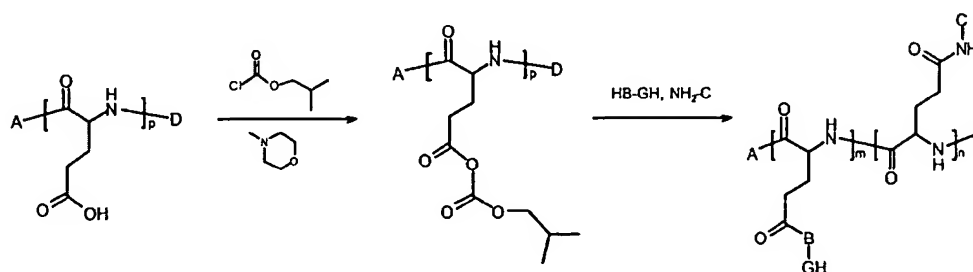
Il convient de comprendre que le copolymère à base de copolyglutamines contenant des fonctions résiduelles carboxyliques, sont soit neutres (forme COOH), soit ionisées (anion COO⁻), selon le pH et la composition. En solution aqueuse, le contre-cation peut être un cation métallique tel que le sodium, le calcium ou le magnésium, ou un cation organique tel que la triéthanolamine, la tris(hydroxyméthyl)-aminométhane ou une polyamine tel que la polyéthylèneimine.

Les copolymères de l'invention sont par exemple obtenus par des méthodes connues de l'homme de l'art. Tout d'abord, rappelons que pour l'obtention de polyaminoacide de type alpha, la technique la plus courante est basée sur la polymérisation d'anhydrides de N-carboxy-aminoacides (NCA), décrites, par exemple, dans l'article "*Biopolymers*, 1976, 15, 1869 et dans l'ouvrage de H.R. Kricheldorf "*alpha-Aminoacid-N-carboxy Anhydride and related Heterocycles*" Springer Verlag (1987). Le dérivé de NCA est de préférence NCA-Glu-O-Bz (Bz = Benzyle), car le groupement

benzyle peut être sélectivement hydrolysé sans toucher d'autres fonctions chimiques des homopolymères ou du groupement hydrophobe.

Un certain nombre de polymères utilisables selon l'invention, par exemple, de type
 5 poly(alpha-L-glutamique), poly(alpha-D-glutamique), poly(alpha-D,L-glutamate) et
 poly(gamma-L-glutamique) de masses variables sont disponibles commercialement.

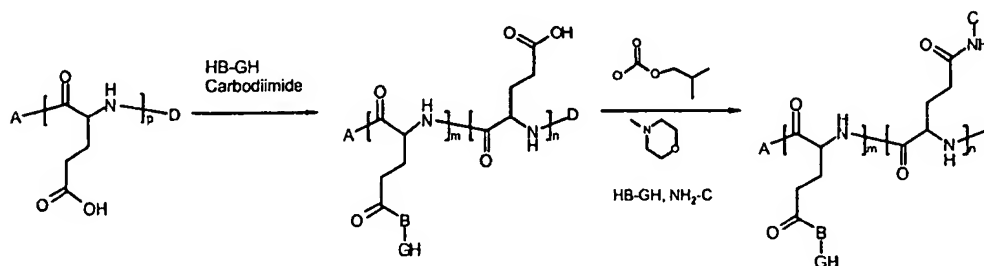
De préférence, on synthétise les copolymères de l'invention selon 2 voies. Dans la
 première; on greffe tout d'abord simultanément ou en séquence le groupement
 10 hydroxyalkylamine (par exemple l'éthanolamine) et le groupement B-GH (par exemple le
 dodecylamine) sur un poly(acide-L-glutamique). Cette réaction peut se faire dans un
 solvant tel que le DMF, le DMSO ou la NMP selon le schéma suivant.



15

Le poly(acide-L-glutamique) peut être synthétisé selon la voie décrite dans la demande de
 brevet FR-A-2 801 226. Dans le cas où le groupement HB-GH est lié via une fonction
 ester, il est plus aisé de greffer d'abord le groupement B-GH par une réaction de couplage
 classique en utilisant un carbodiimide avant de greffer l'alkylamine.

20



Dans la deuxième, on réalise d'abord un poly(alkyl-L-glutamine) selon une voie décrite
 dans la littérature (voir par exemple WO-A-02/098951) et on greffe le groupement
 25 hydrophobe GH sur les groupements OH de l'alkylamide du polymère.

La chimie de polymérisation et les réactions de couplage des groupements sont classiques est bien connue de l'homme de l'art (voir par exemples les brevets ou demandes de brevet de la demanderesse cités précédemment).

Ces méthodes seront mieux comprises à travers la description des exemples.

5

Il doit être observé que le degré de polymérisation est défini par le rapport molaire de l'initiateur sur celle du monomère.

Le couplage du greffon hydrophobe à GH avec une fonction acide du polymère est réalisé
 10 aisément par réaction du polyaminoacide en présence d'un carbodiimide comme agent de couplage et optionnellement, un catalyseur tel que le 4-diméthylaminopyridine et dans un solvant approprié tel que la diméthylformamide (DMF), la N-méthyl pyrrolidone (NMP) ou la diméthylsulfoxyde (DMSO). Le carbodiimide est par exemple, le dicyclohexylcarbodiimide ou le diisopropylcarbodiimide. Les réactifs de couplage tels que les
 15 chloroformates peuvent également être utilisés pour la formation de liaisons amides (voir par exemple l'ouvrage de Bodanszky «Principles of Peptide Synthesis » Springer Verlag 1984 pour des exemples d'agents de couplages). Le taux de greffage est contrôlé chimiquement par la stœchiométrie des constituants et réactifs ou le temps de réaction. Les greffons hydrophobes fonctionnalisés par un acide aminé autre celui du polymère sont
 20 obtenus par couplage peptidique classique ou par condensation directe par catalyse acide. Ces techniques sont bien connues de l'homme de l'art.

Selon un autre de ses aspects, l'invention vise une composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un
 25 copolyhydroxyalkylglutamine tel que défini ci-dessus et éventuellement au moins un principe actif, qui peut être thérapeutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire.

Suivant une disposition intéressante de l'invention, le principe actif est associé au(x) polyaminoacide(s) modifiés par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou que
 30 des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).

Les techniques d'association d'un ou de plusieurs PA aux polyaminoacides modifiés selon l'invention, sont décrites notamment dans le brevet US-B-6,630,171. Elles consistent à incorporer au moins un principe actif dans le milieu liquide contenant des Particules de Vectorisation (PV), de manière à obtenir une suspension colloïdale de PV chargées en ou
 35 associées avec un ou plusieurs principe(s) actif(s) PA. Cette incorporation, qui conduit à un piégeage de PA par les PV, peut être réalisée de la manière suivante :

- mise en solution aqueuse de PA, puis ajout des PV, soit sous forme de suspension colloïdale, soit sous forme de PV isolées (lyophilisat ou précipité) ;
- ou ajout de PA, soit en solution, soit à l'état pur ou préformulé, à une suspension colloïdale de particules PV, éventuellement préparée extemporanément par la dispersion de PV sèches dans un solvant approprié, tel que l'eau.

De préférence, le principe actif est une protéine, une glycoprotéine, une protéine liée à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol (de préférence PolyEthylèneGlycol (PEG) : "protéine-PEGylée"), un polysaccharide, un liposaccharide, un oligonucléotide, un polynucleotide ou un peptide.

Selon une variante, le principe actif est une "petite" molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile.

Au sens du présent exposé, une "petite" molécule est notamment une petite molécule non protéinique.

Comme exemples de PA susceptibles d'être associés aux polyaminoacides selon l'invention, qu'ils soient ou non sous forme de (nano ou micro)particules, on peut citer :

- les protéines telles que l'insuline, les interférons, les hormones de croissance, les interleukines, l'érythropoïétine ou les cytokines ;
- les peptides telles que la leuprolide ou la cyclosporine ;
- les petites molécules telles que celles appartenant à la famille des anthracyclines, des taxoïdes ou des camptothécines ;
- et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme d'un gel, d'une solution, d'une suspension, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'un implant, d'une poudre ou d'un film.

Suivant l'une de ses formes particulièrement préférées, la composition, chargée ou non en principe actif(s), est une suspension colloïdale stable de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles polyaminoacides, dans une phase aqueuse.

Selon une autre mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.

La composition selon l'invention, dès lors qu'elle est pharmaceutique, peut être administrée par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

5

Il est également envisageable que la composition soit sous forme de solution dans un solvant ou un mélange de solvants biocompatibles, susceptible d'être injectée en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur.

Selon une autre mode de réalisation, la composition peut éventuellement contenir
 10 un excipient pour l'ajustement du pH et/ou de l'osmolarité et/ou pour améliorer la stabilité (anti-oxydants) et/ou comme agent anti-microbiens. Ces excipients sont bien connus de l'homme de l'art (se référer à l'ouvrage : *Injectable Drug Development*, P.K. Gupta et al. Interpharm Press, Denver, Colorado 1999).

15 Selon une autre variante, la composition selon l'invention est formulée de telle sorte qu'elle soit apte à former un dépôt sur le site d'injection. Le dépôt peut, par exemple, être au moins en partie provoqué par une protéine physiologique présente in-vivo.

L'invention vise aussi des compositions qui comprennent des polyaminoacides
 20 selon l'invention et des principes actifs et qui sont susceptibles d'être utilisées pour la préparation :

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments
 25 pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyEthylèneGlycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes,
 30 hydrophiles ou amphiphiles ;
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires.

Selon encore un autre de ses aspects, l'invention vise un procédé de préparation :

- 35 • de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapérito-néale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines

liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyEthylèneGlycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;

- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires ;

ce procédé étant caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement à mettre en œuvre au moins un homopolyaminoacide tel que défini ci-dessus et/ou la composition elle aussi décrite supra.

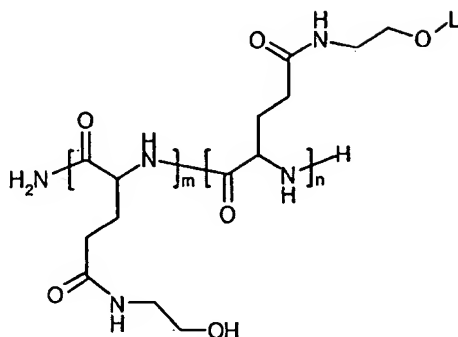
L'invention concerne également une méthode de traitement thérapeutique consistant essentiellement à administrer la composition telle que décrite dans le présent exposé, par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

Suivant une variante particulière de l'invention, cette méthode de traitement thérapeutique consiste essentiellement à mettre la composition telle que décrite supra sous forme de solution dans un solvant biocompatible puis à l'injecter en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur, de préférence de manière à ce qu'elle forme un dépôt sur le site d'injection.

L'invention sera mieux comprise et ses avantages et variantes de mise en œuvre ressortiront bien des exemples qui suivent et qui décrivent la synthèse des polymères de l'invention, leur transformation en système de vectorisation de PA (suspension colloïdale aqueuse stable) et la démonstration de la capacité d'un tel système de s'associer à une protéine pour former des compositions pharmaceutiques.

EXEMPLES :**Exemple 1 : synthèse du polymère (1), pHEG C12**

5

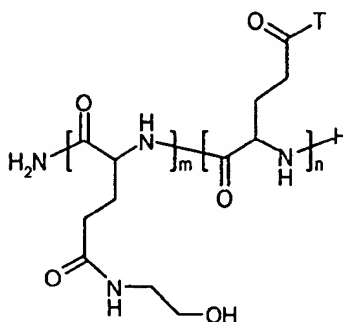


Indices et groupements : $m = 102$, $n = 18$, $L = \text{COC}_{11}\text{H}_{23}$ (lauroyl)

- 10 5 g d'un poly(acide glutamique) de degré de polymérisation (DP) 120 sont solubilisés, par chauffage à 80°C, dans 77 ml de DMF dans un ballon tricol de 250 ml. A cette solution refroidie à -15°C, sont ajoutés 6.35 g d'isobutyl chloroformate puis 5.33 g de N-méthyl morpholine. Le milieu réactionnel est agité 15 minutes en laissant remonter la température à 0°C. Le milieu réactionnel est à nouveau refroidi à -15°C avant de procéder à l'ajout
- 15 d'une solution de sel de tosylate de laurate de 2-aminoéthyle dans le DMF (2.58 g dans 25 ml). Le milieu réactionnel est agité 30 minutes en laissant remonter à 0°C. Le milieu réactionnel est à nouveau refroidi à -15°C avant de procéder à l'ajout des 9.5 g d'éthanol amine. La température remonte à l'ambiante en 1.5 heure. Au bout de ce temps, le milieu réactionnel est dilué dans 920 ml d'eau avant de procéder à une diafiltration contre 5
- 20 volumes d'eau salée (0.9% NaCl) et 8 volumes d'eau. La solution de polymère est ensuite congelée et lyophilisée. 5.2 g du polymère (2) sont obtenus, soit 68% de rendement. Le pourcentage de greffon C12 déterminé par RMN ^1H dans le TFA-*d* est de 14.4%. Le pourcentage d'hydroxyethyl glutamine déterminé par RMN ^1H dans le TFA-*d* est de 86.0%. Le M_n (déterminé par GPC NMP) est de 22.7 kg/mol en équivalents PMMA.

25

Exemple 2 : synthèse du polymère (2), pHEG T



5 Indices et groupements : $m = 211$, $n = 9$, $T = \text{D,L-}\alpha\text{-tocophérol (T)}$

5 g d'un poly(acide glutamique) de degré de polymérisation (DP) 220 et greffé à 4% molaire de façon statistique avec de l' α -tocophérol synthétique (obtenu selon le mode opératoire décrit dans WO-A-03/104303) sont solubilisés, par chauffage à 80°C, dans
 10 77 ml de DMF dans un ballon tricol de 250 mL. A cette solution refroidie à 0°C, sont ajoutés 5,3 ml d'isobutyl chloroformate puis 4,5 ml de N-méthyl morpholine. Le milieu réactionnel est agité 15 minutes avant de procéder à l'ajout des 8,3 ml d'éthanol amine. La température, maintenue 5 minutes à 0°C, remonte ensuite à l'ambiante et le milieu est agité 2 heures. Au bout de ce temps, le milieu réactionnel est bloqué avec 2 ml de HCl 1N
 15 et est ensuite dilué dans 600 ml d'eau avant de procéder à une dialyse (tube 1 kD) contre 1 volume d'eau salée (0.9% NaCl) et 3 volumes d'eau. La solution de polymère est ensuite congelée et lyophilisée. 6.1 g du polymère (3) sont obtenus, soit 96% de rendement. Le pourcentage de tocophérol déterminé par RMN ^1H dans le TFA- d est de 4.5%. Le pourcentage d'hydroxyethyl glutamine déterminé par RMN ^1H dans le TFA- d est de 95%.
 20 Le M_n (déterminé par GPC NMP) est de 116 kg/mol en équivalents PMMA.

Exemple 3 : Synthèse du polymère C1, PHEG -distearylamine

Le polymère comparatif C1 a été synthétisé selon l'exemple 4 de la demande de brevet
 25 WO-A-02/098952. Le polymère contient un groupement distearylamine en bout de chaîne constituée de 40 unités de polyhydroxyethylglutamine.

Exemple 4 : Etude d'association avec l'insuline

30 On prépare une solution aqueuse contenant 10 mg de polymère par millilitre à pH 7,4 et 200 UI d'insuline (7,4 mg). On laisse incuber les solutions pendant deux heures à température ambiante et on sépare l'insuline libre de l'insuline associée par ultrafiltration

(seuil à 100 KDa, 15 minutes sous 10000G à 18 °C). L'insuline libre récupérée dans le filtrat est ensuite dosée par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) et l'on déduit la quantité d'insuline associée. Les résultats sont donnés dans le tableau 1 ci-dessous.

5

TABLEAU 1

Polymère	% association
1	96
2	98
C1	81

Les résultats démontrent que les polymères de l'invention sont capables d'associer fortement l'insuline pour donner des suspensions colloïdales de taille supérieure à 100 KDa et les taux d'association avec l'insuline sont très élevés. Le polymère C1 ayant un groupement hydrophobe distéaryl en bout de chaîne est moins efficace. La capacité d'association de ces polymères les rend aptes à être utilisés comme agents de vectorisation.

15

Exemple 5 : Solubilité du polymère en fonction du pH

La solubilité du polymère 2 a été comparée à celle du polymère de référence, polyglutamate de sodium greffé par de l'alpha-tocophérol à environ 5% molaire, synthétisé comme décrit dans la demande de brevet WO-A-03/104303 (polymère C2). Le résultat est le suivant :

20

Polymère à 20 mg/ml	Solubilité à pH 7.4	Solubilité à pH < 5
Polymère de référence C2	Oui	Non
Polymère 2	Oui	Oui

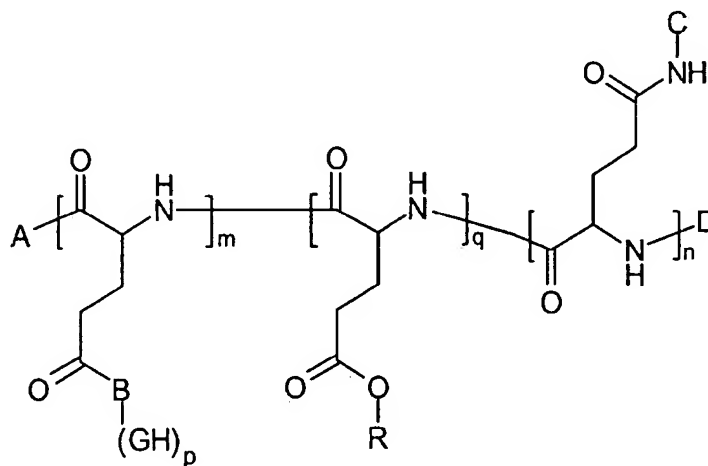
Il apparaît que la solubilité du polymère 2 s'étend sur une large gamme de Ph.

25

REVENDICATIONS

- 5 1. Copolyhydroxyalkylglutamine caractérisé en ce qu'il comprend une multiplicité de groupements hydrophobes (GH) pendants et identiques ou différents entre eux.
- 10 2. Copolyhydroxyalkylglutamine selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comporte en moyenne au moins 3 groupements hydrophobes (GH) par chaîne copolymère.
- 15 3. Copolyhydroxyalkylglutamine selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comprend des groupements hydroxyalkylamine identiques ou différents entre eux et de préférence choisis parmi les groupements suivants:
le 2-hydroxyéthylamine, le 3-hydroxypropylamine, le 2,3-dihydroxypropylamine, le tris(hydroxyméthyl)aminométhane et le 6-hydroxyhexylamine.
- 20 4. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le groupement hydrophobe GH comporte de 8 à 30 atomes de carbone.
- 25 5. Copolyhydroxyalkylglutamine selon la revendication 4, caractérisé en ce que les groupements hydrophobes GH sont choisis dans le groupe comprenant :
 - les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
 - les alkylaryles ou arylalkyles en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
 - 30 • et les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome.
- 35 6. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'au moins l'un des groupements hydrophobes GH est obtenu par greffage, à partir d'un précurseur choisi dans le groupe comprenant: l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol.

7. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend des unités d'alpha-L-glutamate et/ou d'alpha-L-glutamique.
- 5 8. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il répond à l'une des formules générales (I) suivantes:



10

dans laquelle :

- A représente indépendamment :
 - un groupement NHR^2 dans laquelle R^2 représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10 ou un benzyle,
 - une unité acide aminé terminale liée par l'azote et dont la fonction(s) acide(s) est éventuellement modifiée par une amine ou un alcool répondant aux définitions NHR^2 et OR^2 respectivement.
- B est un groupement de liaison divalent, trivalent ou tétravalent, de préférence choisi parmi les radicaux suivants:
 - O-, -NH-, -N-alkyle- (C1 à C5), un résidu d'acide aminé (de préférence naturel), un diol, un triol, une diamine, une triamine, un aminoalcool ou un hydroxyacide comportant de 1 à 6 atomes de carbone,
- C est un groupement mono, di ou trihydroxy(C1 à C6)alkyl, de préférence l'hydroxyéthyle, l'hydroxy-propyle ou le trishydroxyméthylméthane.
- D représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate;

- les groupements hydrophobes GH représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical choisi parmi:
 - les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
 - les alkylaryles ou arylalkyle en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
 - les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S);
 - R représente un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :
 - les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium ;
 - les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
 - les cations à base d'amine,
 - les cations à base d'oligoamine,
 - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
 - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
 - ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine;
 - m, n et q sont des entiers positifs;
 - $(m)/(m+q+n)$ est défini comme le taux de greffage molaire des groupements hydrophobes GH et varie de 0,5 à 90 % molaire sous condition que chaque chaîne de copolymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes;
 - $(m+q+n)$ varie de 10 à 1000, de préférence entre 30 et 500;
 - $(q)/(m+q+n)$ varie de 0 à 60 % molaire ;
 - p est un entier variant de 1 à 3.
9. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que les groupements hydrophobes GH sont disposés de façon aléatoire.

10. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que sa masse molaire se situe entre 2.000 et 200.000 g/mole, et de préférence entre 5.000 et 100.000 g/mole.
- 5 11. Copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est porteur d'au moins un greffon de type polyalkylène (de préférence éthylène)glycol lié à une unité glutamate.
- 10 12. Composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.
- 15 13. Composition selon la revendication 12, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un principe actif.
- 20 14. Composition, notamment selon la revendication 13, caractérisée en ce que le principe actif est associé au(x) copolyhydroxyalkylglutamine(s) par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).
- 25 15. Composition selon la revendication 13 ou 14, caractérisée en ce que le principe actif est une protéine, une glycoprotéine, une protéine liée à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol, un polysaccharide, un liposaccharide, un oligonucléotide, un polynucléotide ou un peptide.
- 30 16. Composition selon la revendication 13 ou 14, caractérisée en ce que le principe actif est une petite molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile.
- 35 17. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 16, caractérisée en ce qu'elle peut être administrée par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.
18. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 17, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'un gel, d'une solution, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'une poudre ou d'un film.

19. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 18, caractérisée en ce qu'elle est une suspension colloïdale de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles de copolyhydroxyalkylglutamines, dans une phase aqueuse.
- 5
20. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 19, caractérisée en ce qu'elle est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et en ce qu'elle peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.
- 10
21. Composition selon la revendication 20, caractérisée en ce qu'elle est apte à former un dépôt sur le site d'injection.
- 15
22. Procédé de préparation de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;
- 20
- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires ;
- caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement à mettre en œuvre au moins un copolyhydroxyalkylglutamine selon l'une quelconque des revendications 1 à 11
- 25
- et/ou la composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 21.

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 663776
FR 0550231

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	FR 2 786 098 A (FLAMEL TECHNOLOGIES) 26 mai 2000 (2000-05-26) * le document en entier *		C08G69/10 C08G69/48 A61K47/48
D,A	& US 6 630 171 B1 (HUILLE SYLVAIN ET AL) 7 octobre 2003 (2003-10-07) -----		
A	EP 0 179 023 A (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 23 avril 1986 (1986-04-23) * le document en entier *		
D,A	& US 4 888 398 A (BICHON ET AL) 19 décembre 1989 (1989-12-19) -----		
D,A	WO 87/03891 A (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 2 juillet 1987 (1987-07-02) * le document en entier *		
A	FR 2 855 521 A (FLAMEL TECHNOLOGIES) 3 décembre 2004 (2004-12-03) * le document en entier *		
A	FR 2 843 117 A (FLAMEL TECHNOLOGIES) 6 février 2004 (2004-02-06) * le document en entier *		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
D,A	& WO 2004/013206 A (FLAMEL TECHNOLOGIES; ANGOT, STEPHANIE; BREYNE, OLIVIER; CHAN, YOU-PING) 12 février 2004 (2004-02-12) -----		C08G A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
7 septembre 2005		Leroy, A	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0550231 FA 663776**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **07-09-2005**
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2786098	A	26-05-2000	FR 2786098 A1	26-05-2000
			AU 1278000 A	13-06-2000
			EP 1131056 A1	12-09-2001
			WO 0030618 A1	02-06-2000
			JP 2002530323 T	17-09-2002
			US 6630171 B1	07-10-2003

US 6630171	B1	07-10-2003	FR 2786098 A1	26-05-2000
			AU 1278000 A	13-06-2000
			EP 1131056 A1	12-09-2001
			WO 0030618 A1	02-06-2000
			JP 2002530323 T	17-09-2002

EP 0179023	A	23-04-1986	AT 60340 T	15-02-1991
			CA 1336034 C	20-06-1995
			DE 3581471 D1	28-02-1991
			EP 0179023 A2	23-04-1986
			JP 1963038 C	25-08-1995
			JP 6089138 B	09-11-1994
			JP 61101533 A	20-05-1986
			US 4976962 A	11-12-1990
			US 4888398 A	19-12-1989

US 4888398	A	19-12-1989	AT 60340 T	15-02-1991
			CA 1336034 C	20-06-1995
			DE 3581471 D1	28-02-1991
			EP 0179023 A2	23-04-1986
			JP 1963038 C	25-08-1995
			JP 6089138 B	09-11-1994
			JP 61101533 A	20-05-1986
			US 4976962 A	11-12-1990

WO 8703891	A	02-07-1987	CH 667874 A5	15-11-1988
			WO 8703891 A1	02-07-1987
			EP 0250492 A1	07-01-1988
			JP 63502037 T	11-08-1988
			US 4892733 A	09-01-1990

FR 2855521	A	03-12-2004	FR 2855521 A1	03-12-2004
			WO 2004108796 A1	16-12-2004

FR 2843117	A	06-02-2004	FR 2843117 A1	06-02-2004
			AU 2003273466 A1	23-02-2004
			CA 2493337 A1	12-02-2004
			EP 1525246 A2	27-04-2005
			WO 2004013206 A2	12-02-2004

EPO FORM P0465

RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0550231 FA 663776

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 07-09-2005

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2004013206 A	12-02-2004	FR 2843117 A1	06-02-2004
		AU 2003273466 A1	23-02-2004
		CA 2493337 A1	12-02-2004
		EP 1525246 A2	27-04-2005
		WO 2004013206 A2	12-02-2004
